

**Die enzymatische Bestimmung von
Adenosintriphosphorsäure (ATP)
im Blut**

Wilhelm Bauhuber

Druck : Anneliese Schubert, München 5, Corneliusstraße 21, Telefon 22 17 77

AUS DER MEDIZINISCHEN POLIKLINIK DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN
Direktor: Professor Dr. W. SEITZ

DIE ENZYMATISCHE BESTIMMUNG VON ADENOSINTRIPHOSPHORSÄURE

(ATP) IM BLUT

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfasst und einer Hohen Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Wilhelm Bauhuber
aus Bad Aibling

München 1959



Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Referent: Professor Dr. K. STUHLFAUTH
Correferent: Professor Dr. W. SEITZ
Dekan: Professor Dr. H. SCHWIEGK

Tag der mündlichen Prüfung: 15. Oktober 1959



MEINEN ELTERN

IN DANKBARKEIT

INHALTSVERZEICHNIS

I. THEMATIK

- a) Stellung und Bedeutung des ATP im Stoffwechselgeschehen
- b) Bisher bekannte Bestimmungsmethoden

II. METHODIK

- a) analytischer Teil
- b) experimenteller Teil

III. BEFUNDE UND TABELLEN

- a) Gesunde
- b) Erkrankungen des Herzens und des Kreislaufs
- c) Erkrankungen des Respirationstraktus
- d) Erkrankungen des Verdauungstraktus
- e) Erkrankungen der Leber und der Gallenwege
- f) Erkrankungen der Niere und des Blutes
- g) sonstige Erkrankungen

IV. MÖGLICHE FEHLERQUELLEN

V. DISKUSSION DER ERGEBNISSE

VI. ZUSAMMENFASSUNG

VII. LITERATURVERZEICHNIS

I. THEMATIK

a) Stellung und Bedeutung von ATP im Stoffwechselgeschehen.

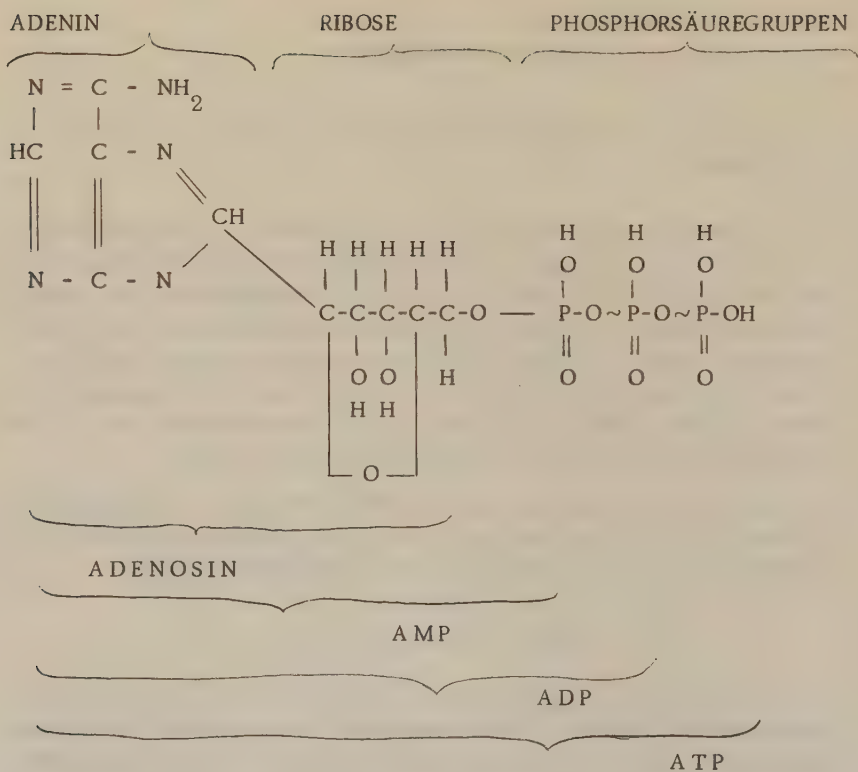
Das Adenosintriphosphat (ATP) steht im Mittelpunkt des allgemeinen Stoffwechselgeschehens. Das durch oxydative und glykolytische Phosphorylierung gebildete ATP enthält in seinen beiden Anhydridbindungen der Phosphorsäure chemische Energie, die für die verschiedensten Leistungen der Zelle in unmittelbarer Form zur Verfügung steht. Die chemische Energie, die beim Abbau der Nahrungsstoffe in der Zelle frei wird, muss in eine spezielle Art von Energie übergeführt werden, um in andere Energieformen, wie z.B. mechanische Arbeit im Muskel umgewandelt werden zu können.

Wird ATP dann gespalten, so wird ein Molekül Phosphorsäure abgegeben, das auf andere Verbindungen übertragen werden kann, es bildet sich ADP. Dabei entsteht freie Energie (12 000 cal). Die Reaktionsgleichung lautet:



Bei der Kopplung der energieliefernden exergonischen und der energieverbrauchenden endergonischen Reaktionen bilden sich organische Phosphorsäureverbindungen, die eine wesentliche Rolle spielen. Die Übertragung eines Phosphatrestes von ATP auf andere organische Stoffe ist meist ein exergonischer Vorgang. Der die Hydrolyse des ATP begleitende Abfall der freien Energie beträgt 12 000 bis 16 000 cal. Die Phosphatbindung dieser Adenosinkörper wird daher als "energiereiche Phosphatbindung" bezeichnet. Unter Aufwendung von chemischer Energie muss die Energiequelle wieder erneuert, das heisst, es muss aus anorganischem Phosphat AMP, ADP und das ATP resynthetisiert werden. Dies geschieht bei aerob lebenden Organismen hauptsächlich durch die Atmungskettenphosphorylierung, ein Prozess, der mit der Verwertung des Wasserstoffes der Nährstoffe bei der Gewebsatmung energetisch gekoppelt ist und sich in den Mitochondrien abspielt (2).

Die chemische Struktur des ATP als Nukleosid ist in der folgenden Formel aufgezeichnet:



Durch das Ferment Adenosintriphosphatase wird ein PO_4 -Rest vom ATP abgespalten, sodass ADP resultiert, eine exergonische Reaktion. Der Vorgang ist reversibel. Eine weitere Aufspaltung des ADP zu AMP und PO_4 wird durch das Ferment Apyrase katalysiert. Es herrscht ein "Fließgleichgewicht" zwischen diesen drei Verbindungen. Die Gleichung lautet:



Neben der Kreatinphosphorsäure ist das ATP der wichtigste Energiespeicher des Organismus und ist mit dieser in einem enzymatischen Gleichgewicht:



In letzter Zeit erstreckte sich die Aufmerksamkeit der Biochemiker aber nicht nur auf die Adenosinkörper und die bisher meist untersuchten Ribonukleoside Inosin, Guanosin, Uridin und Cytidin mit ihren Phosphatestern, sondern besonders auch auf die Desoxyriboside wie Desoxyguanosin, Thymidin, Desoxycytidin und 5-Methyl-Cytosin-Desoxyribosid und ihre Phosphatester. Auf Grund von Stoffwechseluntersuchungen konnte gezeigt werden, dass die energiereichen Nukleotidpolyphosphate besonders dem Energietransport, z. B. im Muskel und die Monophosphate vorzugsweise Assimilationsaufgaben, z. B. in der Leber, dienen (3).

Das ATP liefert Phosphorsäure für Phosphorylierungsvorgänge. Durch sie kommt die für den endgültigen Abbau der Kohlehydrate unerlässliche Verbindung, z. B. Hexosediphosphat zustande. Die Muskelaktion kann nur bei Gegenwart von ATP stattfinden. Diese greift sowohl in die Glykolyse als Energie- und Phosphorsäureresponder als auch insbesondere in den Stoffwechsel und die Funktion der kontraktile Substanz ein, wobei enge, noch nicht vollaufgeklärte Beziehungen zum Aktomyosin und seinem Verhalten in der Ruhe- und Anspannungsphase des Muskels bestehen. Eine wichtige weitere Funktion des Adenylsäuresystems ist die Überführung verschiedener B-Vitamine in die eigentliche, im Körper wirksame Co-Enzymform, die in den meisten Fällen mit Phosphatübertragung einhergeht, wie z. B. Aneurin zu Cocarboxylase, Lactoflavin zu Flavin-Adenin-Dinukleotid, Nikotinsäureamid zu den Codehydrasen I und II, Vitamin B₆ zu Pyridoxalphosphat. Immer kommt es bei diesen Vorgängen zu dem geschilderten reversiblen Übergang von ATP zu ADP und auch zu AMP.

Auch in den Eiweiss- und Fettstoffwechsel greifen die Adenylverbindungen ebenso wie in den Vitaminhaushalt ein. Beispiele hierfür sind die energetische Mitwirkung des ATP bei der Peptidsynthese, dem Glutamin-Aufbau, der Methionin-Verwertung und im Co-Enzym-A-Haushalt. Wir finden nur wenige Stoffwechselvorgänge ohne Mitwirkung der energiereichen Phosphate.

Die Überführung von anorganischem Phosphat in organische Bindung ist derjenige Vorgang, welcher der Zelle die Ausnutzung der freien Energie der Nährstoffe gestattet. Aufgrund dieser Phosphatbindung nimmt ATP eine zentrale Stellung im ganzen intermediären Stoffwechsel ein (4). Es ist Bindeglied zwischen den energieliefernden Abbaureaktionen (Oxydation, Glykolyse) und den energieverbrauchenden synthetischen Prozessen (5). Im Muskel wie in der Hefe besteht die erste Reaktion der Glukose, die in die Zelle eintritt, darin, dass sie in einen Phosphorsäureester übergeführt wird. Die Glukose kann aber nicht mit anorganischem Phosphat reagieren, sondern übernimmt den Phosphor-

säurerest von einer anderen organischen Verbindung, dem ATP. Das Ferment, das diese Reaktion katalysiert, ist von Meyerhof in der Hefe entdeckt worden und hat den Namen Hexokinase erhalten (6).

Zusammenfassend muss festgestellt werden, dass die Adenosintriphosphorsäure die Energiequelle ist, aus der alle Zellbestandteile zur Erhaltung ihrer Stoffwechselaufgaben und damit ihrer Struktur die lebenserhaltende Energie schöpfen. Fehlt ATP, so kann es zu starken Störungen der Stoffwechselregulationen führen. Die Zelle wird geschädigt und ist nicht mehr lebensfähig.

b) Bisher bekannte Bestimmungsmethoden.

Die ATP-Bestimmung wurde nach den verschiedensten Methoden durchgeführt. Ein Überblick über analytische Methoden lässt sich nicht auf Adenyl-derivate allein beschränken, da auch die Nukleotide der anderen Purine und Pyrimidine an Bedeutung gewinnen und viele der zu besprechenden Verfahren für alle Nukleinsäurederivate Gültigkeit besitzt (7).

Bei den Extraktionsmethoden ist für das analytische Ergebnis die Art der Extraktion, Anreicherung und Reinigung der zu bestimmenden Derivate ausschlaggebend. Dieses Prinzip benützte z.B. Larsson (8) für seine Untersuchungen.

Werden Nukleinsäuren chemisch bestimmt, so lassen sie sich quantitativ durch Phosphat-, Stickstoff- und Pentosenbestimmung analysieren (9, 10, 11, 12).

Für die Bestimmung von ATP und ADP fand Woodhouse (13) eine spezifische colorimetrische Methode durch Zinkreduktion der Adenylsäuren und Kupplung des Reduktionsprodukts mit Bratton-Marshall-Reagens.

Die Bestimmung von ATP-Präparaten kann elektrophoretisch im Tiselius-Apparat erfolgen. Die Wanderungsgeschwindigkeit der Adenyl-derivate unterscheidet sich bei pH 3,7 am stärksten (14). Die Vorteile der 1944 von Consden, Gordon und Martin (15) neu eingeführten Papierchromatographie wurden auch sehr bald für den Nachweis der Nukleinsäurederivate erkannt und verschiedene Methoden zur Ermittlung der an sich ungefärbten Substanzflecke auf dem Papierchromatogramm entwickelt.

Cohn und Carter (16) haben 1949/50 durch Einführung der Ionenaustauscher-Chromatographie zur Trennung der Adenosinphosphate einen wesentlichen Fortschritt in der quantitativen und qualitativen Trennung dieser Verbindungen eingeleitet.

Nukleinsäure spaltende Fermente, z.B. Ribonuklease und Desoxyribonukleasen, werden nicht nur zur präparativen Gewinnung der Spaltprodukte von Polynukleotiden angewendet, sie dienen infolge der Spezifität ihrer Umsetzungen vielmehr auch zur quantitativen Bestimmung der entsprechenden Derivate. Verwendung finden Desaminasen und Phosphokinasen, die entweder in geeigneten Pufferlösungen allein oder in Fermentketten auf das zu bestimmende Substrat zur Einwirkung kommen (17).

In der vorliegenden Arbeit soll der ATP-Gehalt im Blut bei verschiedenen Krankheitsbildern festgestellt werden und geprüft werden, ob der ATP-Gehalt des Blutes in irgendeiner Beziehung zu bestimmten Krankheiten gebracht werden kann. Denn Kranksein beruht häufig auf grundsätzlicher Änderung spezifischer Funktionen in einzelnen Organen und damit Regulationsstörungen im Stoffwechselgeschehen. Es stand zur Frage, ob nicht auch Änderungen des Energiehaushalts sich in Änderungen des ATP-Gehalts im Blut ausdrücken.

Im Serum gesunder Versuchspersonen lässt sich kein ATP bzw. AMP nachweisen. Diese Verbindungen finden sich normaler Weise nur in den Erythrozyten und Thrombozyten. Lediglich bei Zerstörung der Erythrozytenmembran finden sich messbare Mengen von ATP bzw. AMP im Serum (18). Die Werte im Gesamtblut werden von verschiedenen Autoren unterschiedlich angegeben. Dies liegt ausser an den verwendeten Bestimmungsmethoden an der Tatsache, dass vor allem der Gehalt an ATP im Blut von Mensch zu Mensch verschieden hoch ist. Ausserdem lassen sich beim gleichen Menschen innerhalb mehrerer Monate erhebliche Schwankungen beobachten (19). Die normalen Werte werden für ATP im Gesamtblut mit 6,2 bis 27,0 mg% angegeben (20). Bei Männern liegen diese etwas höher als bei Frauen, im fetalen Blut und in den ersten Lebenstagen - entsprechend dem grösseren Volumen und der grösseren Zahl der Erythrozyten - noch etwas höher (21). In den Erythrozyten aus 100 ccm Blut vom Menschen fanden sich an ATP 22,9 mg, an ADP 5,0 mg und an AMP 0,4 mg (22). Der ATP-Gehalt menschlicher Thrombozyten liegt bei 0,6 bis 1,0 mg/g Feuchtwicht (23).

Die in dieser Arbeit angewendete Bestimmungsmethode beruht auf einem gekoppelten enzymatischen Test, der auf Untersuchungen von O. Warburg und A. Kornberg basiert.

II. METHODIK

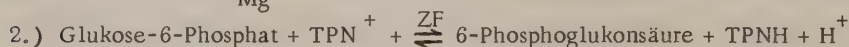
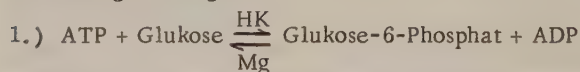
a) Analytischer Teil.

Die von Warburg in die Biochemie eingeführte optische Testung von Intermediärprodukten hat sich als zuverlässige Methode zur Konzentrationsermittlung von Substraten und Fermenten erwiesen. Die enzymatisch-spektrophotometrischen Verfahren haben darüber hinaus den besonderen Vorteil der **Spezifität der Bestimmung**.

Die vorliegende ATP-Analyse beruht auf zwei enzymatischen Reaktionen, die von Warburg und Kornberg angegeben sind. Die technische Ausführung des Testes im biologischen Material wurde in den Grundzügen von Lamprecht angegeben; sie ist ein Beispiel eines "zusammengesetzten optischen Testes".

ATP phosphoryliert Glukose zu Glukose-6-phosphat unter Bildung von ADP. Das katalysierende Ferment ist die Hexokinase (HK). Das entstehende Glukose-6-phosphat wird zu 6-Phosphoglukonsäure dehydriert, mit Hilfe des Warburg'schen Zwischenfermentes (ZF) und Triphosphopyridinnukleotid (TPN) als Wasserstoffacceptor.

Reaktionsgleichungen



Die verwendete Reaktion ist TPN - abhängig; einem Mol TPN-H + H⁺ entspricht ein Mol eingesetztes ATP. Aus der Extinktionszunahme des entstehenden TPNH kann der Gehalt an ATP ermittelt werden.

Verwendete Substanzen zur ATP-Bestimmung:

- | | |
|-----------------------|--|
| 1.) TPN | Natrium-Salz, reinst. SIGMA, St. Louis, Missouri USA |
| 2.) HK | SIGMA, St. Louis, Missouri USA |
| 3.) ZF | in Lösung, freundlicher Weise vom org.Inst. der TH München |
| 4.) MgCl ₂ | wasserfrei, Merck-Darmstadt |
| 5.) Puffer | Trap-HCl Böhringer Mannheim |
| 6.) Glukose | p.a. Merck-Darmstadt |

b) Experimenteller Teil.

Bestimmung von ATP im Blut

Enteiweissung des Blutes

5,0 ml frisch entnommenes Blut (ohne Citrat, bzw. Heparin usw.) werden in 5,0 ml kalter (2°C) 0,6 n HClO_4 gegeben, gut vermischt und hochtourig (ca. 20 000 U/min) in der Kälte zentrifugiert. Der klare Überstand wird abgegossen, in Eis gestellt und unter kräftigem Rühren mit 5,5 n KOH auf pH ca. 7,0 bis 7,2 gebracht (tupfeln). Das Volumen verbrauchter KOH wird abgelesen. Man lässt den neutralisierten Überstand 10 bis 15 Minuten in Eis stehen, bis sich der gesamte KClO_4 -Niederschlag abgesetzt hat, dekantiert ab (nicht filtrieren!) und belässt die Lösung weiterhin in Eis. In dieser von anorganischen Ionen befreiten, enteiweisssten Lösung ist das ATP enthalten. Von diesem Überstand werden 0,2 ml zum optischen Test verwendet.

Lösungen zur ATP-Bestimmung.

- 1.) TPN^+ : 10 mg TPN in 5,0 ml bidest. Wasser
- 2.) HK : 15 mg Ferment in 1,0 ml bidest. Wasser
 TPN^+ , HK und ZF sind ständig in Eiswasser oder im Eisschrank aufzubewahren.
 Die Hexokinase kann drei Tage verwendet werden.
- 3.) ZF : Suspension des Fermentes in 2,0 m-Ammonsulfat
- 4.) Glukose : 0,5 m-Lösung
- 5.) Magnesiumchlorid : 0,1 m-Lösung
- 6.) Trap-Puffer
 pH 7,4 : 9,3 g Tri-Aethanol (Böhringer) in 500 ml bidest. Wasser lösen, mit 22 ml NaOH auf pH 7,4 einstellen und auf 1 000 ml mit bidest. Wasser auffüllen.

Beispiel eines optischen Testes:

Ansatz in der Küvette:

- 4,0 ml Trap-Puffer
- 0,2 ml Magnesiumchlorid
- 0,2 ml neutralisierter Überstand (pH 7,4)
- 0,4 ml Glukoselösung
- 0,05 ml TPN^+ -Lösung

0,05 ml HK-Lösung }
 0,05 ml ZF-Lösung } gestartet wurde mit einem Gemisch aus denselben

Die verwendeten Küvetten haben eine Schichtdicke von $d=2\text{cm}$. Die Extinktionsmessungen wurden im Photometer "Eppendorf" ausgeführt. Gemessen wurde bei der Wellenlänge $m\mu=334$ mit Nickelfilter (Schichtdicke 30 mm) und bei erhöhter Verstärkung.

Vor Zusatz des Fermentgemisches HK und ZF wird zunächst der Nullpunkt des Testgemisches festgestellt. (Messung erfolgte gegen Luft, nicht gegen Leerküvette). Bei Zugabe von ZF + HK wird die Zeit abgestoppt und die Extinktionszunahme nach jeder Minute abgelesen. Die Reaktion ist beendet, wenn zweimal hintereinander der gleiche Wert abzulesen ist. Beim Start des optischen Testes mit ZF ergibt sich nach Zugabe des Fermentes eine Extinktionszunahme, die vom Endwert abgezogen werden muss. Dieser sogenannte "Extinktionssprung" muss bei jeder neuen ZF-Lösung bestimmt werden.

Berechnung des ATP-Gehaltes:

d	Schichtdicke der Küvette = 2 cm
Vol ges	Gesamtvolumen des Küvetteninhalts = 4,95 ml
Vol test	pro Küvette eingesetzte ATP-Testlösung (Überstand) = 0,2 ml
Vol über	Gesamtvolumen entweissener Lösung + ml KOH
Vol Blut	Volumen Blut
E	Abgelesene Extinktionsdifferenz in E/1.000

Als "Vol über" verstehen wir das tatsächliche Gesamtvolumen der entweissenen Lösung, also ohne Berücksichtigung des Niederschlages, z.B. "Vol über" = 5 ml Blut + 5 ml HClO_4 + ml verbrauchte KOH
In der angegebenen Formel wird die freie Säure von ATP (Mol. Gew. 507) ermittelt = $\text{ATP} - \text{H}_4$

$$\frac{E \cdot 507 \cdot 4,95 \cdot \text{Vol über}}{6,13 \cdot 1000 \cdot 2 \cdot 0,2 \cdot \text{Vol Blut}} = \gamma_{\text{ATP}} \text{ (ml Blut bzw. gr Organ)}$$

Die Errechnung der konstanten Werte ergibt 0,256. Die Extinktion errechnet sich dann folgendermassen:

$$E \cdot 0,256 \cdot \text{Vol über} = \gamma_{\text{ATP}}$$

6,13 = Molarer Extinktionskoeffizient von TPNH

507 = Molekulargewicht von ATP.

III. BEFUNDE UND TABELLEN

Mittels dieser Methode wurde bei 84 Erwachsenen der γ ATP-Gehalt pro ml Blut bestimmt. Bei allen war die Zahl der Erythrozyten pro mm³ und der Hämoglobingehalt bekannt. Der γ ATP-Gehalt pro Mill. Erythrozyten wurde berechnet.

In den folgenden Tabellen sind die Befunde aufgeführt, die sich bei Gesunden, Erkrankungen des Herzens und des Kreislaufs, des Respirationstraktes, des Verdauungstraktes, der Leber und der Gallenwege, der Nieren, einschliesslich Anaemien und bei sonstigen Erkrankungen ergaben.

TABELLE 1: Gesunde

lfd. Nr.	Name	Alter	Dat. d. U.	γ ATP ml Blut	γ ATP 106. Ery	Ery 3 mm	Hb %	Diagnose
1	Willy B.	27	12. 12. 56	158,36	0,032	4,8	95	
2	Vera v. B.	40	12. 12. 56	104,23	0,023	4,5	70	
3	Josef H.	40	1. 8. 57	106,33	0,021	5,0	105	
4	Georg H.	22	1. 3. 57	145,11	0,029	5,0	103	
5	Gerhard W.	25	12. 12. 56	113,49	0,024	4,7	95	
6	Hans Sch.	35	14. 2. 57	192,29	0,038	5,0	100	
7	Alfred K.	30	17. 4. 57	144,31	0,028	4,9	100	
8	Inge W.	32	7. 5. 57	111,28	0,024	4,5	70	
9	Edeltraud Z.	30	21. 1. 57	126,20	0,027	4,6	70	
10	Walter H.	26	19. 12. 56	82,86	0,019	4,8	95	

TABELLE II: Herz- und Kreislauferkrankungen

Id. Nr.	Name	Alter	Dat. d. U.	γ ATP ml Blut	γ ATP 10 ⁶ Ery	Ery 3 mm	Hb %	Diagnose
1	Kurt B.	57	11. 2. 57	114,21	0,027	4,1	82	Abs. Arrh. Myodeg. Cord.
2	Wilhelm B.	53	14. 1. 57	117,64	0,028	4,1	77	"
3	Erna St.	66	15. 4. 57	133,04	0,033	4,0	80	"
4	Peter D.	55	21. 2. 57	147,88	0,034	4,3	90	Hypertonus
5	Kath. F.	56	14. 12. 56	138,84	0,034	4,0	80	"
6	Rosa G.	57	8. 4. 56	149,51	0,029	4,9	86	"
7	Anna G.	69	21. 2. 57	172,72	0,034	4,8	85	"
8	Konrad H.	48	21. 2. 57	149,52	0,031	4,8	99	"
9	Karl F.	43	9. 4. 57	118,70	0,023	5,1	103	Herzinfarkt
10	Johann H.	73	30. 4. 57	128,25	0,025	4,9	97	"
11	Ernst W.	44	30. 4. 57	103,59	0,019	5,2	100	"
12	Johann Sch.	57	26. 2. 57	163,67	0,032	5,0	90	Ang. pect.
13	Ludwig M.	37	3. 6. 57	141,54	0,030	4,6	94	Mitralvitium
14	Hilde H.	37	5. 6. 57	149,22	0,032	4,5	94	"
15	Julie H.	56	3. 6. 57	151,00	0,040	3,7	75	Aortitisnodosa
16	Anton K.	30	6. 3. 57	115,50	0,025	4,4	92	Pericard. adh.
17	Josef G.	54	21. 5. 57	116,95	0,026	4,5	89	Endang. obl.
18	Luise Sch.	57	28. 1. 57	135,12	0,030	4,4	83	Thrombophle- bitis
19	Käthe P.	61	21. 5. 57	118,38	0,030	3,6	69	Endocard. rheum.
20	Josef A.	60	27. 6. 57	100,13	0,019	5,2	99	Herzinsuff. Endang. obl.

TABELLE III: Erkrankungen des Respirationstraktes

lfd. Nr.	Name	Alter	Dat. d. U.	$\frac{\gamma}{\text{ml Blut}}$ ATP	$\frac{\gamma}{10^6 \text{ Ery}}$ ATP	$\frac{\text{Ery}}{\text{mm}}$ 3	Hb %	Diagnose
1	Rudolf H.	21	13. 3. 57	124,80	0,026	4,8	90	Pneumonie
2	Rosa K.	44	26. 2. 57	119,36	0,029	4,1	78	"
3	Johann Sch.	56	25. 4. 57	118,93	0,027	4,4	83	"
4	Arnold R.	22	28. 4. 57	158,86	0,036	4,4	89	"
5	Eduard D.	53	8. 3. 57	178,85	0,040	4,3	87	Emphysem- Bronchitis
6	Karoline L.	45	7. 3. 57	160,78	0,042	3,9	79	"
7	Georg H.	61	8. 3. 57	194,75	0,038	5,1	100	"
8	Emma R.	60	14. 3. 57	131,25	0,027	4,8	82	"
9	Friedrich R.	67	13. 3. 57	124,56	0,027	4,7	80	Emphysem
10	Georg R.	47	14. 3. 57	129,38	0,026	4,8	94	Pleuritis
11	Luise Sch.	51	16. 1. 57	96,16	0,030	3,1	66	Asthma bronch.
12	Rosa Sch.	40	26. 6. 57	96,44	0,021	4,4	62	"
13	Walter R.	41	9. 4. 57	86,08	0,021	4,0	63	Silikose
14	Max Sch.	47	14. 12. 56	133,82	0,026	5,0	102	Off. Lu TBC
15	Thomas S.	50	2. 4. 57	158,69	0,028	5,6	106	Bronchial Ca.

TABELLE IV: Erkrankungen des Verdauungstraktes

lfd. Nr.	Name	Alter	Dat. d. U.	γ ATP ml Blut	γ ATP 10 ⁶ Ery	Ery 3 mm	Hb %	Diagnose
1	Michael T.	54	15. 4. 57	142,48	0,029	4,9	97	Ulcus ventr.
2	Bruno K.	29	20. 2. 57	169,72	0,033	5,0		"
3	Walter R.	40	4. 3. 57	186,03	0,037	5,0	98	Ulcus duod.
4	Michael R.	40	7. 3. 57	154,28	0,034	4,5	81	chron. Gastritis
5	Rosina Sch.	53	28. 1. 57	102,51	0,027	4,0	84	Oesophagus Ca
6	Thekla S.	35	21. 1. 57	94,11	0,025	3,7	66	Magen-Ca
7	Emma L.	69	4. 4. 57	145,51	0,060	2,4	46	Magen-Ca
8	Therese F.	48	31. 5. 57	122,12	0,028	4,35	77	Magen-Ca

TABELLE I zeigt uns die Ergebnisse von 10 Gesunden. Der γ ATP-Gehalt pro ml Blut schwankte zwischen 82,86 und 192,29.

In TABELLE II sind die Versuchsergebnisse von 20 Patienten dargestellt, die an Erkrankungen des Herzens und des Kreislaufs litten. Die Werte für γ ATP-Gehalt/ml Blut schwanken zwischen 100,13 und 163,67.

Die in TABELLE III aufgeführten 15 Patienten mit Krankheiten des Respirationstraktes weisen Werte auf, die zwischen 86,08 und 194,75 γ ATP-/ml Blut liegen.

TABELLE IV zeigt, dass bei 8 Erkrankten des Verdauungstraktes die γ ATP-Werte im mm³ Blut zwischen 94,11 und 186,03 angegeben werden.

TABELLE V: Erkrankungen der Leber und der Gallenwege

lfd. Nr.	Name	Alter	Dat. d. U.	$\frac{\gamma\text{-ATP}}{\text{ml Blut}}$	$\frac{\gamma\text{-ATP}}{10^6 \text{ Ery}}$	$\frac{\text{Ery}}{\text{mm}^3}$	Hb %	Diagnose
1	Walter B.	29	8. 3. 57	178,85	0,032	5,5	103	Hepatitis
2	Erich E.	33	2. 4. 57	135,54	0,027	5,0	99	"
3	Else R.	49	13. 2. 57	141,39	0,038	3,7	67	"
4	Ida W.	41	25. 4. 57	119,23	0,025	4,7	92	"
5	Adolf B.	55	12. 4. 57	121,04	0,030	4,1	75	Lebercirrhose
6	Otto Sch.	56	19. 6. 57	94,15	0,023	4,0	72	"
7	Alfred S.	43	28. 5. 57	156,65	0,034	4,6	91	"
8	Ottilie K.	39	5. 6. 57	152,35	0,032	4,6	91	Cholecysto- pathie
9	Paula P.	21	24. 4. 57	136,22	0,037	3,6	75	"
10	Maria Sch.	60	23. 5. 57	149,96	0,033	4,4	85	Gallenblasen-Ca
11	Otto J.	60	12. 4. 57	139,45	0,038	3,6	77	Pankreas-Ca
12	Franziska M.	40	18. 2. 57	135,51	0,029	4,5	79	"

TABELLE VI: Erkrankungen der Niere, einschliesslich Anaemien

lfd. Nr.	Name	Alter	Dat. d. U.	$\frac{\gamma\text{-ATP}}{\text{ml Blut}}$	$\frac{\gamma\text{-ATP}}{10^6 \text{ Ery}}$	$\frac{\text{Ery}}{\text{mm}^3}$	Hb %	Diagnose
1	Heinz. R.	36	15. 3. 57	210,66	0,114	1,8	39	Chron. Glom. neph.
2	Alfred M.	32	12. 4. 57	124,72	0,024	5,0	100	"
3	Therese G.	67	9. 5. 57	133,44	0,046	2,8	55	Anaemie Kimmelstiel Wilson
4	Maria R.	36	24. 1. 57	68,48	0,030	2,4	30	sec. Anaemie
5	Elisabeth G.	21	28. 1. 57	61,14	0,016	3,8	54	Fe-Mangel Anaemie

TABELLE VII: Sonstige Erkrankungen

lfd. Nr.	Name	Alter	Dat. d. U.	$\frac{\gamma \text{ ATP}}{\text{ml Blut}}$	$\frac{\gamma \text{ ATP}}{10^6 \text{ Ery}}$	$\frac{\text{Ery}}{\text{mm}^3}$	Hb %	Diagnose
1	Alois E.	49	12. 4. 57	163,40	0,032	5,0	98	Cerebral- Sklerose
2	Margret E.	52	4. 4. 57	151,00	0,035	4,5	75	Osteochondrose der LWS
3	Max E.	50	31. 5. 57	175,29	0,039	4,4	82	Thyreotoxikose
4	Maria F.	35	14. 3. 57	100,13	0,022	3,4	66	Pulsless disease
5	Maria F.	17	6. 3. 57	104,93	0,024	4,1	67	Polyarthr. rheum.
6	Lorenz K.	61	4. 4. 57	160,39	0,031	5,0	100	M. Addison
7	Max L.	72	18. 2. 57	115,47	0,024	4,7	91	Diab. mell.
8	Reinhold L.	21	8. 4. 57	193,72	0,038	5,0	98	Diab. insip.
9	Erich R.	28	21. 5. 57	131,98	0,026	5,0	99	Myotonie
10	Emil Z.	27	28. 6. 57	144,02	0,031	4,5	81	Latente Tetanie
11	Heinz B.	30	6. 3. 57	178,30	0,044	3,9	81	Epilepsie
12	Käthe H.	69	9. 5. 57	138,51	0,027	5,0	90	Diab. mell.
13	Magda L.	43	25. 4. 57	136,22	0,027	5,0	99	M. Boek
14	Fritz Sch.	44	19. 12. 56	100,80	0,020	5,3	94	Vegetative Dystonie

Bei 12 Patienten, die an Leber- und Gallenwegsaffektionen erkrankt waren, zeigt TABELLE V, dass die Testwerte zwischen 94,15 und 178,83 schwanken.

In TABELLE VI sind Nierenerkrankungen und Anaemien angeführt. Es fanden sich bei 5 Patienten Werte für den ATP-Gehalt pro ml Blut, die zwischen 61,14 und 210,66 liegen.

In TABELLE VII sind 14 Kranke aufgeführt, die an den verschiedensten, sonstigen Krankheiten litten. Wir stellten Ergebnisse für ATP-Gehalt/ml Blut fest, die zwischen 100,13 und 193,72 schwanken.

IV. MÖGLICHE FEHLERQUELLEN

Alle Versuche wurden unter annähernd gleichen Bedingungen durchgeführt. Das Blut wurde bei den Patienten im nüchternen Zustand entnommen. Die zum Test verwendeten Lösungen wurden häufig neu zubereitet; ein etwaiger geringer Fehler wurde durch den genau eingestellten Trap-Puffer ausgeglichen. Die Fermente wurden jeweils im Überschuss zugesetzt, sodass die Reaktion erst dann stillstand, als alles vorhandene ATP aufgebraucht war.

Da sich der ATP-Gehalt unter den verschiedenen Versuchsbedingungen schnell ändert, kam es beim eigentlichen Test darauf an, möglichst rasch zu arbeiten.

Dies wurde bei allen Versuchen berücksichtigt und es ist anzunehmen, dass auch der Fehler in etwa der gleiche war.

Einige Fehlerquellen, die sich nicht beseitigen liessen, liegen in der Natur der Sache begründet, da es sich bei den Testen um biologisches Material handelt, das den Gesetzen von Konstitution und dynamischen, eigenständigen Lebensvorgängen unterliegt.

V. DISKUSSION DER ERGEBNISSE

Wie in der Einleitung ausführlich hervorgehoben, spielt das ATP eine wichtige Rolle im intermediären Stoffwechsel. Es war die Aufgabe der vorliegenden Arbeit, mit einem von Lamprecht angegebenen "zusammengesetzten optischen Test" zu prüfen, ob irgendwelche Beziehungen zwischen dem ATP-Gehalt des Blutes und bestimmten Krankheiten bestehen. Über die möglichen Fehlerquellen während des Testes wurde schon kurz hingewiesen.

Der γ ATP-Gehalt pro ml Blut wurde exakt ermittelt. Der Färbeindex des Blutes war beim ganzen Patientengut bekannt. Somit konnte der Wert in γ für ATP pro Mill. Ery errechnet werden.

Um einen Vergleich mit den verschiedenen Krankheitsbildern zu besitzen, wurde auch bei Gesunden das ATP im Blut quantitativ bestimmt.

Es zeigten sich hier, wie bei anderen Autoren (20, 21, 24) unterschiedliche Werte. Der Durchschnittswert lag bei Frauen mit 113,83 γ ATP/ml Blut unter dem der Männer mit 134,65 γ ATP/ml Blut, was auch die Verfasser (21) feststellten.

Eine charakteristische Beziehung dieser Werte zum Hämoglobingehalt des Blutes, bzw. zum Färbeindex stellte sich nicht heraus. Um es aber nicht auszuschliessen, diskutieren wir im folgenden die Werte in γ ATP pro Mill. Erythrozyten.

Bei kritischer Betrachtung der Befunde von herzkranken Patienten lässt sich aussagen, dass bei den drei Patienten mit Infarkt die Werte niedriger sind als bei anderen Erkrankungen des Herzens. Ebenso ergaben sich für obliterierende Gefässprozesse niedrige ATP-Werte im Blut. Nach Hess (25) gehören die Adenylverbindungen und speziell das ATP zu den physiologischen Regulatoren der Muskeldurchblutung; therapeutische intraarterielle Gaben von ATP verlängern in den meisten Fällen die "claudicatio distance" beträchtlich.

Für die Affektionen der Lungen stellte sich in einem Fall von Silikose und in einem Fall von Asthma bronchiale im Vergleich zu den anderen, zwar schwankenden Werten mit 0.021 γ ATP/Mill. Ery eine Verringerung heraus.

Bei den von uns untersuchten Magenkranken weisen die Carcinomträger die niedrigsten und höchsten Werte auf, vielleicht je nach dem Grad der Metastasierung.

Albaum, Ogur und Hirschfeld (26) beobachteten bei Leberparenchymschäden fast regelmässig eine Senkung des ATP-Spiegels im Blut, was auch Lövgren (27) bei Patienten mit Lebercirrhose beobachten konnte, wogegen beim Lebercarcinom und bei Leberverfettung der ATP-Spiegel im Blut normal oder sogar erhöht war. Unsere Untersuchungen zeigen nur in einem Fall von Lebercirrhose und Hepatitis eine signifikante Verringerung des ATP-Gehalts im Blut.

Während Lowry und Mitarbeiter (28) bei anaemischen Kranken eine Tendenz zu höheren ATP-Konzentrationen, ohne lineare Beziehung zur Schwere der Anaemie nachweisen, fanden wir bei Nierenkranken, bzw. anaemischen Patienten sehr unterschiedliche Werte.

Bei verschiedenen anderen Erkrankungen ergaben sich verschiedene Ergebnisse. Bei der sehr selten vorkommenden "Pulsless disease" z.B. ein sehr niedriger Wert, ebenso bei einem Fall von vegetativer Dystonie, während bei Epilepsie der höchste Wert bestimmt wurde. Wie Lövgren (24), so sahen auch wir bei einem Patienten mit Polyarthrits rheumatica eine Senkung des ATP-Spiegels, was dieser auf Leberparenchymschädigung zurückführt.

Die kritische Übersicht und Zusammenfassung dieser zahlreichen Einzelbefunde, erlaubt es nicht, objektive Aussagen über die Änderungen der ATP-Werte im Blut zu machen. Wieweit zwischen pathologischen Vorgängen in einzelnen Organen und dem Blutspiegel der Adenosintriphosphorsäure gesetzliche Beziehungen bestehen, müssen weitere Untersuchungen lehren.

VI. ZUSAMMENFASSUNG

Der von Lamprecht angegebene "zusammengesetzte optische Test" wurde bei 84 Erwachsenen durchgeführt. Dabei wurde der Gehalt von ATP im Blut bei verschiedenen Krankheitsbildern genau bestimmt. Zum Vergleich dienten Werte bei Gesunden. Nach möglicher Ausschaltung von Fehlerquellen ergaben sich unterschiedliche Werte, sodass keine charakteristischen Beziehungen zwischen ATP-Gehalt des Blutes und pathologischen Prozessen in einzelnen Organen festgestellt werden konnten.

VII. LITERATURVERZEICHNIS

1. Krebs, H. A.: Die energieliefernden Reaktionen des Stoffwechsels. Verhdlgn. d. Ges. d. Nat. forscher und Ärzte, 99. Vers. zu Hamburg, Springer-Verlag Berlin-Göttingen-Heidelberg 1957
2. Lynen, F.: Coenzym A, ein Bindeglied zwischen energieliefernden und energieverbrauchenden Reaktionen des Stoffwechsels. Verhdlgn. d. Ges. d. Nat. forscher und Ärzte, 99. Vers. zu Hamburg, Springer-Verlag Berlin-Göttingen-Heidelberg 1957
3. Herbrand, W., Jaeger, K. H.: Das Adenylsäuresystem 2. Auflage, Aulendorf 1952, Editio Cantor
4. Edlbacher, S., Leuthardt, F.: Lehrbuch der physiol. Chemie, 11., verbesserte und erweiterte Auflage (1954) 435
5. Edlbacher, S., Leuthardt, F.: Lehrbuch der physiol. Chemie, 11., verbesserte und erweiterte Auflage (1954) 430
6. Edlbacher, S., Leuthardt, F.: Lehrbuch der physiol. Chemie, 11., verbesserte und erweiterte Auflage (1954) 210
7. Jaeger, K. H., Herbrand, W.: Das Adenylsäuresystem 2. Auflage, Aulendorf 1952, Editio Cantor
8. Larsson: Svensk skin. tidskr. 54, 61 (1942)
9. Lohmann, K.: Biochem. Zschr. 194, 306 (1928)
10. Bailey, K.: Biochem. J. 45, 479 (1949)
11. Schmidt, G.: Hoppe-Seyler's Zschr. physiol. Chemie 219, 191 (1933)

12. Hiusberg, K., Lang, K.:
Mediz. Chemie, Urban und Schwarzenberg,
München und Berlin (1951)
13. Woodhouse, D.W.: Arch. Biochem. 25, 347 (1950)
14. Bock, R.M., Alberty, R.A.:
J. Biol. Chem. 193, 435 (1951)
15. Consden, R., Gordon, A.H., Martin, A.J.P.:
Biochem. J. 38, 224 (1944)
16. Cohn, W.E., Carter, C.E.:
J. Amer. Chem. Soc. 72, 4273 (1950)
17. Boettge, K., Jaeger, K.H., Mittenzwei, H.:
Das Adenylsäuresystem 51 (1957)
18. Maurer, H.J., Pfeffer, K.H.:
Wiener klin. Wschr. 66, 317 (1954)
19. Rottimo, A., Hoffmann, G.T., Albaum, H.:
Bloos 7, 836 (1952)
20. Albaum, H., Rottimo, A., Hoffmann, G.T.:
J. Laborat. Clin. Med. 42, 255 (1953)
21. Flaschenträger, B., Lehnartz, E.:
Springer-Verlag, 1954, Physiol. Chemie, Lehr-
und Handbuch II, "Der Stoffwechsel", 1. Teil,
Bandteil a
22. Bartlett, G.R., Savage, E., Hughes, L., Marlow, A.:
J. Appl. Physiol. 6, 51 (1953)
23. Born, G.V.R.: Biochem. J. 62, 33 (1956)
24. Lövgren, O.: Acta haemat. 12, 35 (1954)
25. Hess, H.: DMW 81, Jhg. Nr. 33 1308-1310/1323-1324
26. Albaum, H.G., Ogur, M., Hirschfeld, A.:
Arch. Biochem. 27, 130 (1950)
27. Lovgren, O.: Am. med. int. Fenn., 42, 42 (1953)
28. Lowry, M.L., Moore, R.W., Cailiet, R.:
Amer. J. Med. So. 226, 73 (1953)

Herrn Professor Dr. K. STUHLFAUTH danke ich für die Überlassung des Themas und für die Unterstützung bei der Ausführung der Arbeit.

Frau Dr. Dr. V. v. BRAND, der Leiterin des Isotopen-Labors sei besonders gedankt für die Bewilligung des Laborplatzes, die Einführung in theoretische Fragen und für die Hilfe, zu der sie jederzeit bereit war.

Frau Dr. J. WOLLER verdanke ich die Einführung in den praktischen Teil der Arbeit.

L E B E N S L A U F

Am 18. April 1930 wurde ich als Sohn des Reg. Amtmanns Franz Bauhuber und dessen Ehefrau Katharina, geb. Kirmair in Bad Aibling geboren. Von 1936 bis 1941 besuchte ich die Volksschule in Bad Aibling und trat dann in die Oberrealschule in Rosenheim ein, an der ich im Juli 1951 die Reifeprüfung ablegte. Anschliessend arbeitete ich bei der Firma Steinbeis u. Consorten, Papierfabrik Bruckmühl, bis ich im Wintersemester 1952 mein Studium der Medizin an der Universität München begann. An der gleichen Universität legte ich im April 1955 die ärztliche Vorprüfung und im November 1958 das Staatsexamen ab. Von Dezember 1958 bis Oktober 1959 war ich als Medizinalassistent an der Medizinischen Poliklinik der Universität München und seitdem bin ich am Kreiskrankenhaus Prien am Chiemsee.

